



DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIÉE EN VERTU DU TRAITÉ DE COOPÉRATION EN MATIÈRE DE BREVETS (PCT)

| | | |
|--|-----------|--|
| (51) Classification internationale des brevets ⁶ : C08K 5/17, C08B 37/08, 37/06, 37/10, C08L 5/08, 33/06, A61K 9/20 // (C08L 5/08, 33:06) (C08L 33/06, 5:08) | A1 | (11) Numéro de publication internationale: WO 98/08897 (43) Date de publication internationale: 5 mars 1998 (05.03.98) |
| (21) Numéro de la demande internationale: PCT/FR97/01534 (22) Date de dépôt international: 29 août 1997 (29.08.97) (30) Données relatives à la priorité: 96/10601 30 août 1996 (30.08.96) FR (71) Déposant (pour tous les Etats désignés sauf US): SOCIÉTÉ DE CONSEILS DE RECHERCHES ET D'APPLICATIONS SCIENTIFIQUES (S.C.R.A.S.) [FR/FR]; 51/53, rue du Docteur Blanche, F-75016 Paris (FR). (72) Inventeurs; et (75) Inventeurs/Déposants (US seulement): EL MATNI, Nada [FR/FR]; 46, rue Hamelin, F-75116 Paris (FR). LABARRE, Denis [FR/FR]; 44, rue des 4 Cantons, F-91140 Villebon sur Yvette (FR). FESSIM, Hatem [FR/FR]; 40, rue d'Aubigny, F-69009 Lyon (FR). (74) Mandataire: BOURGOUIN, André; Société de Conseils Ad- ministratifs et Financiers (S.C.A.F.), Service Brevets et Mar- ques, 42, rue du Docteur Blanche, F-75016 Paris (FR). | | (81) Etats désignés: AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CU, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, GB, GE, GH, HU, IL, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZW, brevet ARIPO (GH, KE, LS, MW, SD, SZ, UG, ZW), brevet eurasien (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), brevet européen (AT, BE, CH, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), brevet OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, ML, MR, NE, SN, TD, TG). Publiée <i>Avec rapport de recherche internationale.</i> |
| (54) Title: POLYCARBOXYLIC BASED CROSS-LINKED COPOLYMERS (54) Titre: COPOLYMERES RETICULES A BASE DE POLYMERES POLYCARBOXYLIQUES (57) Abstract <p>The invention concerns cross-linked copolymers with a base of non cross-linked polycarboxylic polymers, said copolymers containing at least one polycarboxylic polysaccharide. The invention also concerns a method for preparing these copolymers and their use in particular as support in pharmaceutical compositions.</p> (57) Abrégé <p>L'invention concerne des copolymères réticulés à base de polymères polycarboxyliques non réticulés, lesdits copolymères contenant au moins un polysaccharide polycarboxylique. L'invention concerne également un procédé de préparation de ces copolymères et leur utilisation notamment comme support dans les compositions pharmaceutiques.</p> | | |

UNIQUEMENT A TITRE D'INFORMATION

Codes utilisés pour identifier les Etats parties au PCT, sur les pages de couverture des brochures publiant des demandes internationales en vertu du PCT.

| | | | | | | | |
|----|---------------------------|----|---|----|--|----|-----------------------|
| AL | Albanie | ES | Espagne | LS | Lesotho | SI | Slovénie |
| AM | Arménie | FI | Finlande | LT | Lituanie | SK | Slovaquie |
| AT | Autriche | FR | France | LU | Luxembourg | SN | Sénégal |
| AU | Australie | GA | Gabon | LV | Lettonie | SZ | Swaziland |
| AZ | Azerbaïdjan | GB | Royaume-Uni | MC | Monaco | TD | Tchad |
| BA | Bosnie-Herzégovine | GE | Géorgie | MD | République de Moldova | TG | Togo |
| BB | Barbade | GH | Ghana | MG | Madagascar | TJ | Tadjikistan |
| BE | Belgique | GN | Guinée | MK | Ex-République yougoslave de Macédoine | TM | Turkménistan |
| BF | Burkina Faso | GR | Grèce | ML | Mali | TR | Turquie |
| BG | Bulgarie | HU | Hongrie | MN | Mongolie | TT | Trinité-et-Tobago |
| BJ | Bénin | IE | Irlande | MR | Mauritanie | UA | Ukraine |
| BR | Brésil | IL | Israël | MW | Malawi | UG | Ouganda |
| BY | Bélarus | IS | Islande | MX | Mexique | US | Etats-Unis d'Amérique |
| CA | Canada | IT | Italie | NE | Niger | UZ | Ouzbékistan |
| CF | République centrafricaine | JP | Japon | NL | Pays-Bas | VN | Viet Nam |
| CG | Congo | KE | Kenya | NO | Norvège | YU | Yougoslavie |
| CH | Suisse | KG | Kirghizistan | NZ | Nouvelle-Zélande | ZW | Zimbabwe |
| CI | Côte d'Ivoire | KP | République populaire démocratique de Corée | PL | Pologne | | |
| CM | Cameroun | KR | République de Corée | PT | Portugal | | |
| CN | Chine | KZ | Kazakhstan | RO | Roumanie | | |
| CU | Cuba | LC | Sainte-Lucie | RU | Fédération de Russie | | |
| CZ | République tchèque | LI | Liechtenstein | SD | Soudan | | |
| DE | Allemagne | LK | Sri Lanka | SE | Suède | | |
| DK | Danemark | LR | Libéria | SG | Singapour | | |
| EE | Estonie | | | | | | |

COPOLYMERES RETICULES A BASE DE POLYMERES POLYCARBOXYLIQUES

L'invention concerne des copolymères réticulés à base de polymères polycarboxyliques non réticulés, les dits copolymères contenant au moins un polysaccharide polycarboxylique. L'invention concerne également un procédé de préparation de ces copolymères et leur utilisation notamment comme support dans les compositions pharmaceutiques.

Certains composés à structure polymérique contenant un polysaccharide polycarboxylique, éventuellement modifié, ont été décrits dans la littérature. Par exemple, la demande WO89/02445 décrit un gel à base d'acide hyaluronique ; mais ce gel ne comprend, dans sa structure, que de l'acide hyaluronique et aucun autre polymère polycarboxylique. Par ailleurs, aucun agent de réticulation est utilisé par la préparation de ce gel. Le composé ainsi obtenu est principalement utilisé en chirurgie. La demande WO91/16881 décrit, entre autre, la combinaison d'un principe actif avec une matrice constitué d'un polymère modifié, c'est à dire sur lequel sont greffés des saccharides. Ce polymère modifié peut être un polymère naturel tel que la chondroïtine sulfate. Mais cette matrice ne contient qu'un seul type de polymère.

Les copolymères selon l'invention à base de polymères polycarboxyliques, contiennent au moins un polysaccharide polycarboxylique et au moins un autre polymère polycarboxylique qui n'est pas un polysaccharide. L'association d'un polysaccharide avec un autre type de polymère polycarboxylique, permet de moduler les propriétés des polysaccharides telles que l'hydrophilie. On peut ainsi obtenir des copolymères avec des propriétés de dégradation appropriées en fonction de leurs applications. Par ailleurs, les copolymères selon l'invention, sont avantageusement préparés en milieu aqueux. Ceci est

un réel avantage car il est presque impossible d'éliminer totalement les solvants dans une structure polymérique : l'existence de traces de solvants aqueux résiduels est en général plus facilement acceptable et acceptée que des traces de solvants organiques résiduels tels que le diméthylsulfoxyde ou la diméthylformamide.

- 5 L'invention a pour objet des copolymères réticulés à base de polymères polycarboxyliques non réticulés et d'un agent de réticulation comprenant au moins deux fonctions amine, les dits copolymères comprenant au moins un polysaccharide polycarboxylique et au moins un autre polymère polycarboxylique non réticulé qui n'est pas un polysaccharide polycarboxylique.
- 10 Les polysaccharides polycarboxyliques non réticulés peuvent être choisis, par exemple, parmi les glycosaminoglycanes, l'acide pectinique, l'acide alginique, les dérivés carboxyliques du dextrane tels que les carboxyméthyl-dextranes, ou les dérivés carboxyliques de la cellulose tels que les carboxyméthylcelluloses. Parmi les glycosaminoglycanes, on peut citer l'acide hyaluronique, la chondroïtine sulfate,
- 15 l'héparine, le sulfate de dermatane, le sulfate d'héparane, le sulfate de kératane ou un mélange de ces derniers. Parmi les polymères polycarboxyliques qui ne sont pas des polysaccharides, on peut citer le poly(acide glutamique), le poly(acide aspartique), le poly(acide maléique), le poly(acide malique) ou le poly(acide fumarique), les polymères acryliques polycarboxyliques tels que le poly(acide acrylique), le poly(acide
- 20 méthacrylique) ou les copolymères de ces derniers tels que les Eudragits® L et S. L'expression polymères polycarboxyliques comprend les polymères tels que définis ci-dessus mais également les dérivés partiellement ou totalement substitués de ces polymères comme, par exemple, leurs esters, leurs amides ou leurs sels, les copolymères contenant les unités présentes dans ces polymères polycarboxyliques ou dans leurs dérivés tels que
- 25 définies ci-dessus, mais aussi le mélange de ces polymères et/ou de leurs dérivés et/ou de leurs copolymères tels que définis ci-dessus.

L'invention a plus particulièrement pour objet des copolymères réticulés tels que définis ci-dessus, caractérisés en ce que le polysaccharide est choisi parmi l'acide pectinique ou

alginique, les glycosaminoglycanes, et de préférence l'acide hyaluronique, la chondroïtine sulfate, l'héparine, le sulfate de dermatane, le sulfate d'héparane, le sulfate de kératane ou un mélange de ces derniers.

L'invention a plus particulièrement pour objet des copolymères réticulés tels que définis
5 ci-dessus, caractérisés en ce que le polymère polycarboxylique non réticulé qui n'est pas
un polysaccharide polycarboxylique est choisi parmi les polymères acryliques
polycarboxyliques, le poly(acide glutamique), le poly(acide aspartique), le poly(acide
maléique), le poly(acide malique) ou le poly(acide fumarique). De préférence, le
polymère polycarboxylique non réticulé qui n'est pas un polysaccharide
10 polycarboxylique, est un polymère acrylique polycarboxylique et plus particulièrement le
poly(acide acrylique) ou le poly(acide méthacrylique).

Les polymères polycarboxyliques selon l'invention, sont liés entre eux par un agent de
réticulation. Cet agent de réticulation comprend au moins deux fonctions amines qui sont
susceptibles de réagir avec les fonctions carboxyliques libres des dits polymères
15 carboxyliques non réticulés. Il peut être choisi, par exemple, parmi les protéines, les
polyamines, les triamines, les diamines, les acides aminés naturels ou synthétiques, ou
les dérivés des composés tels que définis ci-dessus comme, par exemple, leurs sels, leurs
esters ou leurs amides. Parmi les acides aminés, on peut citer, par exemple, l'arginine, la
lysine, l'histidine et l'ornithine. Parmi les diamines, on peut citer l'éthylènediamine, la
20 butanediamine, l'hexanediamine, l'heptanediamine, l'octanediamine ou la
dodécanediamine. Parmi les polyamines, on peut citer le chitosane, les poly(acide aminé)
tels que la polylysine ou la polyornithine, ainsi que les copolymères de ces polyamines.
L'agent de réticulation peut également être choisi parmi les composés tels que la
spermine, la spermidine, la mélamine, la guanidine ou la diéthylènetriamine. De
25 préférence, l'agent de réticulation utilisé est un acide aminé et avantageusement la lysine,
l'ornithine ou l'histidine.

L'invention a plus particulièrement pour objet également des copolymères réticulés tels
que définis ci-dessus, caractérisés en ce que le polysaccharide polycarboxylique est un

polysaccharide polycarboxylique dégradable par la flore microbienne du colon tel que la chondroïtine sulfate, l'acide hyaluronique, l'acide pectinique ou l'héparine.

L'invention a plus particulièrement pour objet des copolymères réticulés tels que définis ci-dessus, caractérisés en ce que le polysaccharide polycarboxylique est la chondroïtine sulfate et l'autre dit polymère polycarboxylique est choisi parmi le poly(acide acrylique) et le poly(acide méthacrylique), et l'agent de réticulation est la lysine ou l'histidine.

L'invention a également pour objet un procédé de préparation de copolymères réticulés tels que définis ci-dessus, ledit procédé caractérisé en ce que l'on fait réagir les dits polymères polycarboxyliques non réticulés constituant le copolymère réticulé, en présence d'un activateur et d'un agent de réticulation comprenant au moins deux fonctions amine, dans un milieu réactionnel approprié. De préférence, la préparation de copolymères réticulés tels que définis ci-dessus s'effectue en milieu aqueux. L'expression milieu aqueux signifie un milieu ne contenant que de l'eau ou de l'eau mélangée avec un ou plusieurs solvants miscibles à l'eau tel que, par exemple, l'acétone ou les alcools inférieurs tels que l'éthanol. De préférence le milieu aqueux ne comprend que de l'eau. La mise en œuvre du procédé selon l'invention peut s'effectuer de différentes manières. En effet, le procédé peut consister à mélanger ensemble les polymères polycarboxyliques non réticulés et l'agent de réticulation, puis à rajouter l'activateur. Le procédé de réticulation selon l'invention peut consister également à mélanger ensemble les polymères polycarboxyliques non réticulés et l'activateur, puis à rajouter l'agent de réticulation. Le procédé peut consister également à réticuler un des polymères polycarboxyliques non réticulés constituant du copolymère, en mélangeant ce dit polymère avec l'agent de réticulation puis l'activateur ou bien avec l'activateur puis l'agent de réticulation, puis à rajouter dans le milieu réactionnel au moins un autre polymère polycarboxylique non réticulé, pour le réticuler avec le dit polymère présent dans le mélange réactionnel. Lors de la mise en œuvre du procédé, les réactifs mis en présence peuvent être préalablement solubilisés dans le milieu réactionnel choisi. De préférence, les polymères polycarboxyliques non réticulés et l'agent de réticulation sont

mélangés ensemble dans un milieu aqueux jusqu'à solubilisation puis l'activateur est rajouté. Le procédé est mis en œuvre à une température comprise entre -30 et 100°C, de préférence entre 0 et 40 °C et de manière très préférentielle à température ambiante. La température de mise en œuvre du procédé de réticulation est bien évidemment inférieure
5 aux températures de dégradation ou de décomposition des réactifs mis en présence.

Les proportions relatives des réactifs que sont les polymères polycarboxyliques non réticulés, l'agent de réticulation et l'activateur, peuvent varier selon les caractéristiques des copolymères recherchés. Les proportions des polymères polycarboxyliques non réticulés sont définies par rapport aux quantités molaires des fonctions carboxyliques
10 présentes par unité de base. Les polymères polycarboxyliques non réticulés peuvent varier dans un rapport molaire compris entre 0,01 et 100. Le rapport molaire de l'agent de réticulation par rapport aux fonctions carboxyliques totales peut varier entre 0,01 et 100. Le rapport molaire de l'activateur par rapport aux fonctions carboxyliques totales peut varier entre 0,01 et 100.

15 L'activateur peut être choisi parmi les agents de couplage classiquement utilisés en synthèse peptidique. Ainsi l'activateur peut être choisi, par exemple, parmi les carbodiimides, des dérivés des quinolines ou des anhydrides mixtes. Comme exemple de carbodiimides, on peut citer les hydrohalogénures tels que l'hydrochlorure de N-(3-diméthylaminopropyl)-N'-éthyl carbodiimide (EDC), le N-cyclohexyl-
20 N'-(2-morpholinoéthyl) carbodiimide (CMC). Comme exemple des dérivés des quinolines, on peut citer la 2-éthoxy-N-éthoxycarbonyl-1,2-dihydroquinoline (EEDQ), la N-isobutoxycarbonyl-2-isobutoxy-1,2-dihydroquinoline (IIDQ), la N-isobutoxycarbonyl-2-méthoxy-1,2-dihydroquinoline (IMDQ), la N-isobutoxycarbonyl-2-éthoxy-1,2-dihydroquinoline (IEDQ). Comme exemple d'anhydrides mixtes, on peut
25 citer les chloroformates et plus particulièrement l'isobutylchloroformate (IBC). De préférence, l'activateur utilisé est l'hydrochlorure de N-(3-diméthylaminopropyl)-N'-éthyl carbodiimide.

Les copolymères réticulés selon l'invention peuvent être utilisés, par exemple, dans les domaines pharmaceutiques, cosmétiques, biomédicaux, vétérinaires, chimiques, agrochimiques ou agroalimentaires.

Plus particulièrement, l'invention a pour objet une composition pharmaceutique contenant
5 au moins un principe actif et, à titre de support inerte ou d'excipient, au moins un copolymère réticulé selon l'invention. L'expression principe actif désigne toute substance ou mélange de substances ayant une activité thérapeutique.

Une telle composition peut être élaborée à partir de ces différents composants par toute technique classique connue de l'homme de l'art. Elle peut se présenter, par exemple, sous
10 forme de comprimés matriciels, de comprimés enrobés par les copolymères de la présente invention, de comprimés multicouches, de pellets matriciels, de pellets ou des microparticules enrobés par les copolymères de la présente invention. Ces microparticules et pellets peuvent être contenus ou non dans des capsules. Elle peut se présenter également sous forme de microparticules ou de nanoparticules dont l'un au moins des
15 constituants est un copolymère de la présente invention ou bien sous toute autre forme permettant une administration orale. Elle peut se présenter également sous toute autre forme adaptée au mode d'administration choisi ou approprié telle que des suppositoires ou des préparations pour application locale ou pour injection. La quantité du principe actif permettant une action pharmacologique efficace, en particulier thérapeutique, peut varier
20 en fonction de la nature du principe actif, de l'âge et/ou de la maladie du patient à traiter.

La présente invention a également pour objet l'utilisation d'une composition pharmaceutique selon l'invention pour une libération contrôlée du ou des principes actifs qu'elle contient.

De telles compositions peuvent également posséder d'autres caractéristiques qui
25 dépendent éventuellement des caractéristiques des polymères polycarboxyliques de départ telles que la bioadhésion. Ainsi, une composition pharmaceutique selon l'invention peut également être utilisée en tant que système pharmaceutique biadhésif. La présente

invention a donc également pour objet l'utilisation d'une composition pharmaceutique selon l'invention en tant que système bioadhésif.

Des compositions telles définies ci-dessus dans lesquelles le polysaccharide polycarboxylique est dégradable par la flore du colon, peuvent également être utilisée
5 tant que système à libération spécifique au niveau du colon par action de la flore microbienne. Le concept de la libération spécifique au niveau du colon par action de la flore microbienne, est basé sur la propriété du colon de posséder une flore microbienne très abondante qui, de plus, a la potentialité de métaboliser des substances faiblement ou non dégradées par la partie haute du tube digestif. De telles compositions sont
10 particulièrement adaptées pour véhiculer des principes actifs destinés au traitement des maladies du colon, ce qui permet d'augmenter leur efficacité et de diminuer leurs effets secondaires. Parmi ces principes actifs figurent les stéroïdes telles que la dexaméthasone et l'hydrocortisone, les anti-inflammatoires non stéroïdiens tels que l'acide 5-aminosalicylique, les antinéoplasiques tels que le méthotrexate, le tamoxifène, les
15 antispasmodiques et les agents chimiothérapeutiques. De telles compositions sont particulièrement adaptées également pour véhiculer des principes actifs qui sont absorbés de façon plus efficace au niveau du colon tels que les stéroïdes ou la xanthine. Leur administration directe au niveau du colon permet d'augmenter leur efficacité. De telles compositions sont particulièrement adaptées également pour véhiculer des principes actifs
20 qui sont dégradés dans les parties hautes du tube digestif. Parmi ces principes actifs, on peut citer les peptides et les protéines tels que les vaccins oraux, l'insuline, les peptides contraceptifs, les peptides activateurs du plasminogène, les peptides de croissance, LH/RH.

Les exemples suivants sont présentés pour illustrer les procédures ci-dessus et ne doivent
25 en aucun cas être considérés comme une limite à la portée de l'invention.

PARTIE EXPÉRIMENTALE

EXEMPLE 1

1,33 g de sel sodique de chondroïtine sulfate (A à 70%, C à 30 %) (CS), 0,29 g de sel sodique d'acide polyméthacrylique (PMA) et 3,35 g de monochlorhydrate de L-lysine
5 sont mélangés ensemble dans 9 ml d'eau bidistillée jusqu'à obtention d'une solution limpide qui est par la suite dégazée. Puis on ajoute 4,59 g de chlorhydrate de N-éthyl-N'-(3-diméthylaminopropyl) carbodiimide (EDC). Le pH est maintenu entre 6 et 7 par ajout successif d'acide chlorhydrique 2,5 N. La réaction est effectuée à température ambiante pendant 6 heures. Puis le milieu réactionnel est transvasé dans un boudin de
10 dialyse (Spectra/por, de seuil de coupure 12-14 KD) et dialysé 4 fois contre 4 litres d'eau à chaque fois. Le précipité ainsi obtenu est lavé à l'eau puis séché. On obtient le copolymère de chondroïtine sulfate et d'acide polyméthacrylique recherché de masse moyenne $1,53 \pm 0,12$ g. L'utilisation du soufre comme marqueur de la chondroïtine sulfate permet de définir, par une analyse élémentaire, le pourcentage en masse de
15 chondroïtine sulfate dans le copolymère qui est égal à 59 ± 2 %.

EXEMPLE 2

On travaille de la même manière que dans l'exemple 1, mais en utilisant 1,77 g de monochlorhydrate de L-lysine et 2,76 g d'EDC. La masse du copolymère obtenu est de $1,06 \pm 0,15$ g ; le pourcentage en masse de CS dans le précipité est de 55 ± 2 .

20 EXEMPLE 3

On travaille de la même manière que dans l'exemple 1, mais en utilisant 7,06 g de monochlorhydrate de L-lysine et 8,21 g d'EDC. La masse du copolymère obtenu est de $1,61 \pm 0,12$ g ; le pourcentage en masse de CS dans le précipité est de 61 ± 1 .

EXEMPLE 4

On travaille de la même manière que dans l'exemple 1, mais en utilisant 3 g d'histidine à la place de la L-Lysine. La masse du copolymère obtenu est de $1,94 \pm 0,01$ g ; le pourcentage en masse de CS dans le précipité est de 48 ± 3 .

5 **EXEMPLE 5**

On travaille de la même manière que dans l'exemple 1, mais en utilisant 0,43 g de PMA, 4,5 g de monochlorhydrate de L-lysine et 5,82 g d'EDC. La masse du copolymère obtenu est de $1,86 \pm 0,05$ g ; le pourcentage en masse de CS dans le précipité est de 58 ± 2 .

10 **EXEMPLE 6**

On travaille de la même manière que dans l'exemple 1, mais en utilisant 0,58 g de PMA, 5,45 g de monochlorhydrate de L-lysine et 7,05 g d'EDC. La masse du copolymère obtenu est de $2,07 \pm 0,01$ g ; le pourcentage en masse de CS dans le précipité est de 54 ± 2 .

15 **EXEMPLE 7**

Des essais de solubilisation du copolymère de l'exemple 1 sont effectués dans les solvants et mélanges de solvants suivants : eau à pH 3 et 7, acétonitrile, éthanol, tétrahydrofurane, dichlorométhane, diméthylsulfoxyde, diméthylacétamide, acétone, dioxane, triéthylamine, chloroforme, éther de pétrole, hexane, diméthylformamide, alcool
20 benzylique, heptane, alcool isopropylique, propanediol-1,2, mélange eau / acétone (50%/50%), mélange eau /éthanol (50%/50%).

Le copolymère est insoluble dans tous ces solvants ce qui montre son caractère réticulé.

Etude de la dégradation enzymatique de copolymères

1- étude spectroscopique

Nous étudions ici la dégradation des copolymères de l'invention à base de chondroïtine sulfate, par les chondroïtinases, enzymes de la flore microbienne du colon.

- 5 Des suspensions de copolymères des exemples 1 à 6, dans un tampon (acétate/tris/albumine) de pH 7,3, sont préparées et agitées pour se stabiliser quelques heures. Les suspensions contiennent 67 mg de CS/ml de tampon. Une solution de chondroïtinases est rajoutée à raison de 3.10^{-3} UE (Unité Enzymatique) pour chaque mg de CS contenue dans la suspension. Le mélange est incubé à 37°C. A des temps
- 10 déterminés, une suspension est centrifugée à 4°C puis filtrée. Ensuite, une étude de l'absorbance UV du surnageant est effectuée. Les disaccharides provenant de la dégradation de la CS ont un maximum d'absorption à 230-240 nm (Yamagata, T. et al., *J. Biol. Chem.*, 243(7):1523-1535(1968) ; Salyers, A. et coll., *J. Bactériol.*, 143(2):772-780)). Le témoin est une solution de CS non réticulée préparée dans les
- 15 mêmes conditions opératoires que ci-dessus.

Les cinétiques d'apparition en solution des disaccharides provenant de la dégradation de la CS non réticulée et du copolymère obtenu dans l'exemple 1 sont présentées dans la figure 1 ci-après.

- Ces résultats montrent que le copolymère de l'exemple 1 est dégradé par les enzymes. La
- 20 comparaison de la dégradation du copolymère de l'exemple 1 avec celle du témoin, montre que le copolymère, bien que réticulé, est rapidement dégradé par les enzymes.

On procède de la même façon sur les copolymères des exemples 2 à 6 ; les résultats montrent que ces copolymères contenant la CS sont dégradés par les chondroïtinases.

2- étude rhéologique

La dégradation enzymatique des copolymères entraîne l'apparition de chaînes moléculaires de plus petites tailles et devrait entraîner par conséquent la diminution de la viscosité du milieu dans lequel ils sont en suspension.

- 5 Une suspension de copolymère de l'exemple 1 dans le mélange tampon (tris/acétate/albumine) est préparée dans les mêmes conditions opératoires que celles utilisées dans l'étude spectroscopique telle présentée ci-dessus. Puis, 4 ml de suspension sont incubés dans le cylindre du rhéomètre (RS100 *Haake*) maintenu à 37°C. La mesure de la viscosité (η) initiale est effectuée. Ensuite, 0,8 UE de chondroïtinases dissoutes
- 10 dans 160 ml d'eau sont rajoutées à la suspension. Le témoin est une suspension de copolymère de l'exemple 1 préparée dans les conditions opératoires précédemment décrites, sans ajout d'enzyme et diluée dans 160 ml d'eau. L'évolution de la viscosité est suivie au cours du temps. L'essai est effectué deux fois pour chaque test.

La figure 2 est une représentation semi-logarithmique de l'évolution de la viscosité de la

15 suspension du copolymère de l'exemple 1 en présence d'enzymes (ligne continue) ou en absence d'enzymes (ligne témoin en pointillé). La viscosité du témoin qui est de l'ordre de 17 ± 3 mPa.s, ne varie pas au cours du temps. Par contre, en présence d'enzymes, la viscosité chute progressivement de 17 mPa.s jusqu'à 3 mPa.s en 55 minutes puis devient quasi-stable. Cette chute importante de la viscosité s'explique par la dégradation

20 du copolymère par les enzymes.

De plus, suite aux études spectroscopique et rhéologique ci-dessus menées dans les mêmes conditions opératoires, on peut remarquer, au bout de 55 minutes d'incubation en présence d'enzymes, une chute quasi totale de la viscosité alors qu'il n'y a seulement qu'une partie des disaccharides provenant de la dégradation de la CS qui est détectée en

25 solution. Ainsi, la dégradation de quelques sites du copolymère par les enzymes suffit pour avoir un effondrement du réseau tridimensionnel du copolymère.

Etude des comprimés à libération contrôlée

Les copolymères réticulés des exemples 1 à 6 sont tamisés puis mélangés avec de l'acide aminosalicyle (5ASA) et du stéarate de magnésium (rapport massique 79.5/20/0,5). Puis des comprimés de 250 mg et de dureté > 100 N sont préparés par compression directe.

Des essais de dissolution sont effectués sur les comprimés ainsi préparés, dans un appareillage à palette tournante (DISSOLUTEST) à 37°C sous une agitation de 50 tours/minutes. Les milieux de dissolution utilisés sont un mélange tampon de pH 1,2 et 7,5 correspondant respectivement aux milieux gastrique et intestinal artificiels (sans enzymes). Pour chaque formule et dans chaque milieu, l'essai est répété trois fois. A des temps déterminés, un échantillon du milieu de dissolution est prélevé et filtré. Le dosage du 5ASA est effectué par spectroscopie UV.

Le tableau 1 ci-dessous récapitule les temps (en heure) de libération de 50 % de la dose initiale du 5ASA ($t_{50\%}$), obtenus en milieux gastrique et intestinal artificiels.

Tableau 1

| Exemple | $t_{50\%}$ (milieu gastrique) | $t_{50\%}$ (milieu intestinal) |
|---------|----------------------------------|-----------------------------------|
| 1 | 2,88 | 7,66 |
| 2 | 1,42 | 1,61 |
| 3 | 6,48 | 8,29 |
| 4 | 1,22 | 1,59 |
| 5 | 7,94 | 8,65 |
| 6 | 7,96 | 11,05 |

En milieu gastrique, les $t_{50\%}$ varient entre 1,2 et 8 heures permettant ainsi de moduler la libération du principe actif et cela en fonction de la nature des copolymères. Parmi ces

copolymères, les copolymères des exemples 3, 5 et 6, ayant respectivement des $t_{50\%}$ de 6,5 ; 7,9 et 8 h, modèrent de façon importante la libération du principe actif.

En milieu intestinal, les $t_{50\%}$ varient entre 1,6 et 11 h permettant également de moduler la libération du principe actif et cela en fonction de la nature des copolymères. De plus, une
5 modération importante de la libération du principe actif est obtenue avec les copolymères des exemples 1, 3, 5 et 6 . En effet les $t_{50\%}$ obtenus avec ces copolymères sont respectivement de 7,7 ; 8,3 ; 8,7 et 11 h.

Ainsi, les copolymères synthétisés permettent de réaliser des systèmes pharmaceutiques à libération contrôlée et cela en fonction des caractéristiques des copolymères réticulés.
10 Plus particulièrement, ceux qui possèdent la propriété de modérer de façon importante la libération du principe actif et d'être dégradables par les chondroïtinases, semblent être des candidats intéressants pour réaliser des systèmes à libération au niveau du colon par action de la flore microbienne.

REVENDICATIONS

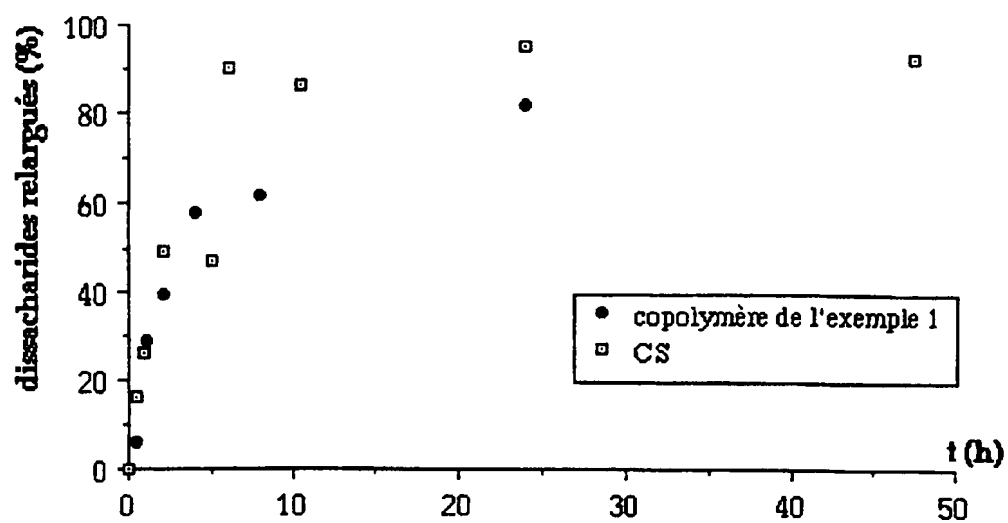
- 1- Copolymères réticulés à base de polymères polycarboxyliques non réticulés et d'un agent de réticulation comprenant au moins deux fonctions amine, les dits copolymères comprenant au moins un polysaccharide polycarboxylique et au moins un autre polymère polycarboxylique non réticulé qui n'est pas un polysaccharide polycarboxylique.
- 5 2- Copolymères selon la revendication 1, caractérisés en ce que le polysaccharide polycarboxylique est choisi parmi les glycosaminoglycanes, l'acide pectinique ou alginique.
- 3- Copolymères selon l'une des revendications 1 à 2, caractérisés en ce que le polysaccharide polycarboxylique est un glycosaminoglycane choisi parmi l'acide
10 hyaluronique, la chondroïtine sulfate, l'héparine, le sulfate de dermatane, le sulfate d'héparane, le sulfate de kératane.
- 4- Copolymères selon l'une des revendications 1 à 3, caractérisés en ce que le polymère polycarboxylique non réticulé qui n'est pas un polysaccharide polycarboxylique est choisi parmi les polymères acryliques polycarboxyliques, le poly(acide glutamique), le
15 poly(acide aspartique), le poly(acide maléique), le poly(acide malique) ou le poly(acide fumarique).
- 5- Copolymères selon l'une quelconque des revendications 1 à 4, caractérisés en ce que le polymère polycarboxylique non réticulé qui n'est pas un polysaccharide polycarboxylique, est un polymère acrylique polycarboxylique.
- 20 6- Copolymères selon la revendication 5, caractérisés en ce que le polymère acrylique polycarboxylique est le poly(acide acrylique) ou le poly(acide méthacrylique).

- 7- Copolymères selon l'une quelconque des revendications 1 à 6, dans lesquels l'agent de réticulation est choisi parmi les diamines, les acides aminés naturels ou synthétiques ou les polyamines.
- 8- Copolymères selon la revendication 7 dans lesquels l'acide aminé est choisi parmi la
5 lysine, l'histidine ou l'ornithine.
- 9- Copolymères selon la revendication 7 dans lesquels la diamine est choisie parmi l'éthylènediamine, la butanediamine, l'hexanediamine, l'heptanediamine, l'octanediamine et la dodécanediamine.
- 10- Copolymères selon la revendication 7 dans lesquels la polyamine est choisie parmi le
10 chitosane, la polyornithine ou la polylysine.
- 11- Copolymères selon l'une des revendications 1 à 10, caractérisés en ce que le polysaccharide polycarboxylique est dégradable par la flore du colon.
- 12- Copolymères selon la revendication 11, caractérisés en ce que le polysaccharide polycarboxylique est choisi parmi la chondroïtine sulfate, l'acide hyaluronique, l'acide
15 pectinique ou l'héparine.
- 13- Copolymères selon l'une quelconque des revendications 1 à 8, 11 et 12, caractérisés en ce que le polysaccharide polycarboxylique est la chondroïtine sulfate, l'autre dit polymère polycarboxylique est le poly(acide acrylique) ou le poly(acide méthacrylique), et l'agent de réticulation est la lysine ou l'histidine.
- 20 14- Procédé de préparation de copolymères selon l'une quelconque des revendications 1 à 13, caractérisé en ce que l'on fait réagir, en milieu aqueux, les dits polymères polycarboxyliques non réticulés, en présence d'un activateur et dudit agent de réticulation.
- 15- Procédé selon la revendication 14, dans lequel l'activateur est choisi parmi les
25 carbodiimides, les dérivés des quinolines et les anhydrides mixtes.

- 16- Composition pharmaceutique contenant au moins un principe actif et, à titre de support inerte ou d'excipient, au moins un copolymère selon l'une des revendications 1 à 10.
- 5 17 - Composition pharmaceutique contenant au moins un principe actif et, à titre de support inerte ou d'excipient, au moins un copolymère selon l'une des revendications 11 à 13.
- 18 - Utilisation d'une composition pharmaceutique selon l'une des revendications 16 à 17 pour une libération contrôlée.
- 10 19 - Utilisation d'une composition pharmaceutique selon l'une des revendications 16 à 17 en tant que système pharmaceutique bioadhésif.
- 20 - Utilisation d'une composition pharmaceutique selon la revendication 17 pour une libération spécifique du principe actif au niveau du colon.
- 21 - Utilisation selon la revendication 20 pour véhiculer le principe actif destiné au traitement des maladies du colon.
- 15 22 - Utilisation selon la revendication 20 pour véhiculer le principe actif qui est absorbé au niveau du colon.
- 23 - Utilisation selon la revendication 20 pour véhiculer le principe actif qui est dégradé dans les parties hautes du tube digestif.

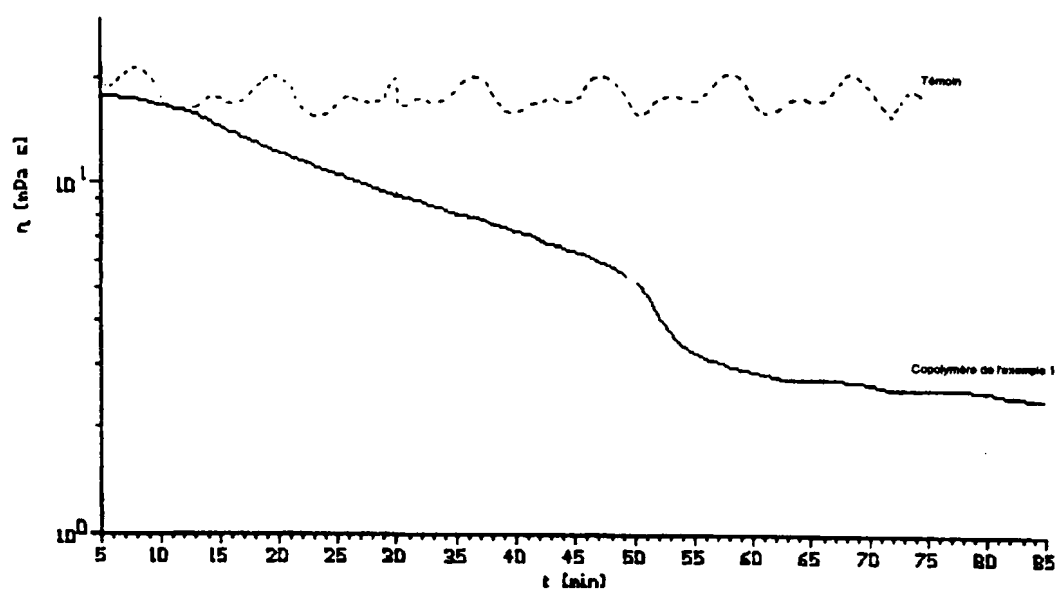
1 / 1

Fig. 1



5

Fig. 2



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/FR 97/01534

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC 6 C08K5/17 C08B37/08 C08B37/06 C08B37/10 C08L5/08
C08L33/06 A61K9/20 //(C08L5/08,33:06),(C08L33/06,5:08)

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 6 C08K C08B A61K C08L

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

| Category | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages | Relevant to claim No. |
|----------|--|---------------------------------------|
| A | WO 91 16881 A (YISSUM RESEARCH DEVELOPMENT COMPANY OF THE HEBREW UNIVERSITY OF JERUSAL) 14 November 1991 cited in the application see claims; example 5 --- | 1-3,7,9, 11,12, 14-17, 20,23 |
| A | US 4 026 851 A (GREENE) 31 May 1977 see abstract --- | 1,6,7 |
| A | WO 89 02445 A (GENZYME CORPORATION) 23 March 1989 see page 15; example 11 see claims see abstract --- | 1,2,7,8, 11,12, 14,15 |
| | -/- | |

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.

☒ Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents :

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

"&" document member of the same patent family

| | |
|--|--|
| Date of the actual completion of the international search | Date of mailing of the international search report |
| 28 November 1997 | 09/12/1997 |
| Name and mailing address of the ISA European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016 | Authorized officer Mazet, J-F |

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Int. Application No

PCT/FR 97/01534

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

| Category | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages | Relevant to claim No. |
|----------|--|-----------------------------|
| A | US 5 017 229 A (BURNS ET AL.) 21 May 1991 see column 3, line 55 - column 4, line 68 see column 9, line 55 - line 57 see claims --- | 1-3,7,8, 10, 14-16,18 |
| A | EP 0 334 167 A (KNOLL AKTIENGESELLSCHAFT) 27 September 1989 see the whole document ----- | 1,2,4-6, 16,18 |

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No.

PCT/FR 97/01534

| Patent document cited in search report | Publication date | Patent family member(s) | Publication date |
|---|---------------------|----------------------------|---------------------|
| WO 9116881 A | 14-11-91 | AU 660147 B | 15-06-95 |
| | | AU 8087791 A | 27-11-91 |
| | | DE 527942 T | 03-03-94 |
| | | EP 0527942 A | 24-02-93 |
| | | ES 2048133 T | 16-03-94 |
| | | HU 210497 B | 28-04-95 |
| | | HU 64210 A | 28-12-93 |
| | | IL 98087 A | 14-11-96 |
| | | US 5525634 A | 11-06-96 |
| US 4026851 A | 31-05-77 | JP 1270577 C | 25-06-85 |
| | | JP 52023152 A | 21-02-77 |
| | | JP 59046272 B | 12-11-84 |
| WO 8902445 A | 23-03-89 | US 4937270 A | 26-06-90 |
| | | AT 138940 T | 15-06-96 |
| | | AU 606230 B | 31-01-91 |
| | | AU 2482588 A | 17-04-89 |
| | | CA 1332235 A | 04-10-94 |
| | | DE 3855351 D | 11-07-96 |
| | | DE 3855351 T | 10-10-96 |
| | | DK 68990 A | 17-05-90 |
| | | EP 0397652 A | 22-11-90 |
| | | FI 94357 B | 15-05-95 |
| | | JP 9183804 A | 15-07-97 |
| | | JP 3502704 T | 20-06-91 |
| | | NO 942763 A | 16-03-90 |
| | | US 5527893 A | 18-06-96 |
| US 5017229 A | 21-05-91 | AT 151294 T | 15-04-97 |
| | | AU 660282 B | 22-06-95 |
| | | AU 8392491 A | 23-01-92 |
| | | DE 69125609 D | 15-05-97 |
| | | DE 69125609 T | 17-07-97 |
| | | EP 0537292 A | 21-04-93 |
| | | ES 2100954 T | 01-07-97 |
| | | WO 9200105 A | 09-01-92 |
| | | US 5527893 A | 18-06-96 |
| EP 334167 A | 27-09-89 | DE 3809764 A | 05-10-89 |

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/FR 97/01534

| Patent document cited in search report | Publication date | Patent family member(s) | Publication date |
|---|---------------------|----------------------------|---------------------|
| EP 334167 A | | CA 1339194 A | 05-08-97 |
| | | DK 142789 A | 24-09-89 |
| | | ES 2054906 T | 16-08-94 |
| | | HU 9500712 A | 28-12-95 |
| | | JP 2006543 A | 10-01-90 |
| | | US 5230901 A | 27-07-93 |
| <hr/> | | | |

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Dem. internationale No

PCT/FR 97/01534

A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE

CIB 6 C08K5/17 C08B37/08 C08B37/06 C08B37/10 C08L5/08
C08L33/06 A61K9/20 //(C08L5/08,33:06),(C08L33/06,5:08)

Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB

B. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTE

Documentation minimale consultée (système de classification suivi des symboles de classement)

CIB 6 C08K C08B A61K C08L

Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où ces documents relèvent des domaines sur lesquels a porté la recherche

Base de données électronique consultée au cours de la recherche internationale (nom de la base de données, et si cela est réalisable, termes de recherche utilisés)

C. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

| Catégorie | Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents | no. des revendications visées |
|-----------|---|---------------------------------------|
| A | WO 91 16881 A (YISSUM RESEARCH DEVELOPMENT COMPANY OF THE HEBREW UNIVERSITY OF JERUSAL) 14 novembre 1991 cité dans la demande voir revendications; exemple 5 --- | 1-3,7,9, 11,12, 14-17, 20,23 |
| A | US 4 026 851 A (GREENE) 31 mai 1977 voir abrégé --- | 1,6,7 |
| A | WO 89 02445 A (GENZYME CORPORATION) 23 mars 1989 voir page 15; exemple 11 voir revendications voir abrégé --- | 1,2,7,8, 11,12, 14,15 |

-/--

☒ Voir la suite du cadre C pour la fin de la liste des documents

☒ Les documents de familles de brevets sont indiqués en annexe

* Catégories spéciales de documents cités:

"A" document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent

"E" document antérieur, mais publié à la date de dépôt international ou après cette date

"L" document pouvant jeter un doute sur une revendication de priorité ou cité pour déterminer la date de publication d'une autre citation ou pour une raison spéciale (elle qu'indiquée)

"O" document se référant à une divulgation orale, à un usage, à une exposition ou tous autres moyens

"P" document publié avant la date de dépôt international, mais postérieurement à la date de priorité revendiquée

"T" document ultérieur publié après la date de dépôt international ou la date de priorité et n'appartenant pas à l'état de la technique pertinent, mais cité pour comprendre le principe ou la théorie constituant la base de l'invention

"X" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive par rapport au document considéré isolément

"Y" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier

"Z" document qui fait partie de la même famille de brevets

Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée

28 novembre 1997

Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale

09/12/1997

Nom et adresse postale de l'administration chargée de la recherche internationale

Office Européen des Brevets, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Fonctionnaire autorisé

Mazet, J-F

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Der. de Internationale No

PCT/FR 97/01534

C.(suite) DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

| Catégorie | Identification des documents cités, avec le cas échéant, l'indication des passages pertinents | no. des revendications visées |
|-----------|--|-------------------------------|
| A | US 5 017 229 A (BURNS ET AL.) 21 mai 1991 voir colonne 3, ligne 55 - colonne 4, ligne 68 voir colonne 9, ligne 55 - ligne 57 voir revendications --- | 1-3,7,8, 10, 14-16,18 |
| A | EP 0 334 167 A (KNOLL AKTIENGESELLSCHAFT) 27 septembre 1989 voir le document en entier ----- | 1,2,4-6, 16,18 |

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Renseignements relatifs aux membres de familles de brevets

Den. de internationale No

PCT/FR 97/01534

| Document brevet cité au rapport de recherche | Date de publication | Membre(s) de la famille de brevet(s) | Date de publication |
|---|------------------------|---|------------------------|
| WO 9116881 A | 14-11-91 | AU 660147 B | 15-06-95 |
| | | AU 8087791 A | 27-11-91 |
| | | DE 527942 T | 03-03-94 |
| | | EP 0527942 A | 24-02-93 |
| | | ES 2048133 T | 16-03-94 |
| | | HU 210497 B | 28-04-95 |
| | | HU 64210 A | 28-12-93 |
| | | IL 98087 A | 14-11-96 |
| | | US 5525634 A | 11-06-96 |
| US 4026851 A | 31-05-77 | JP 1270577 C | 25-06-85 |
| | | JP 52023152 A | 21-02-77 |
| | | JP 59046272 B | 12-11-84 |
| WO 8902445 A | 23-03-89 | US 4937270 A | 26-06-90 |
| | | AT 138940 T | 15-06-96 |
| | | AU 606230 B | 31-01-91 |
| | | AU 2482588 A | 17-04-89 |
| | | CA 1332235 A | 04-10-94 |
| | | DE 3855351 D | 11-07-96 |
| | | DE 3855351 T | 10-10-96 |
| | | DK 68990 A | 17-05-90 |
| | | EP 0397652 A | 22-11-90 |
| | | FI 94357 B | 15-05-95 |
| | | JP 9183804 A | 15-07-97 |
| | | JP 3502704 T | 20-06-91 |
| | | NO 942763 A | 16-03-90 |
| | | US 5527893 A | 18-06-96 |
| US 5017229 A | 21-05-91 | AT 151294 T | 15-04-97 |
| | | AU 660282 B | 22-06-95 |
| | | AU 8392491 A | 23-01-92 |
| | | DE 69125609 D | 15-05-97 |
| | | DE 69125609 T | 17-07-97 |
| | | EP 0537292 A | 21-04-93 |
| | | ES 2100954 T | 01-07-97 |
| | | WO 9200105 A | 09-01-92 |
| | | US 5527893 A | 18-06-96 |
| EP 334167 A | 27-09-89 | DE 3809764 A | 05-10-89 |

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Renseignements relatifs aux membres de familles de brevets

Der. de Internationale No

PCT/FR 97/01534

| Document brevet cité au rapport de recherche | Date de publication | Membre(s) de la famille de brevet(s) | Date de publication |
|---|------------------------|---|------------------------|
| EP 334167 A | | CA 1339194 A | 05-08-97 |
| | | DK 142789 A | 24-09-89 |
| | | ES 2054906 T | 16-08-94 |
| | | HU 9500712 A | 28-12-95 |
| | | JP 2006543 A | 10-01-90 |
| | | US 5230901 A | 27-07-93 |
| <hr/> | | | |